

PCT

AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA
COMMUNICATION DE LA DEMANDE
INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

BREESE-MAJEROWICZ
3, avenue de l'Opéra
F-75001 Paris
FRANCE

PCT/PTO 20 JUL 1999

Date d'expédition (jour/mois/année) 23 juillet 1998 (23.07.98)		AVIS IMPORTANT	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire F17B11bisPCT			
Demande internationale no PCT/FR98/00081	Date du dépôt international (jour/mois/année) 16 janvier 1998 (16.01.98)	Date de priorité (jour/mois/année) 20 janvier 1997 (20.01.97)	
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) etc			

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:

EP,JP,US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:

Aucun

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1)a-bis)).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 23 juillet 1998 (23.07.98) sous le numéro WO 98/31808

RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la **demande d'examen préliminaire international** doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé J. Zahra
no de télécopieur (41-22) 740.14.35	no de téléphone (41-22) 338.83.38

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

28 Rec'd OCT 20 1998
PCT

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

NOTIFICATION RELATIVE A LA PRESENTATION
DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

BREESE - MAJEROWICZ
3, avenue de l'Opéra
F-75001 Paris
FRANCE

Date d'expédition (jour/mois/année)

04 mars 1998 (04.03.98)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

F17B11bisPCT

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale no

PCT/FR98/00081

Date du dépôt international

16 janvier 1998 (16.01.98)

Date de priorité

20 janvier 1997 (20.01.97)

Déposant

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE -CNRS- etc

La date de réception par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes suivantes est notifiée au déposant:

Demande antérieure no:Date de priorité:Pays dans lequel ou pour lequel
la demande a été déposée:Date de réception du
document de priorité

97/00540

20 jan 1997 (20.01.97)

FR

02 mar 1998 (02.03.98)

Bureau international d l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

n de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

B. Fitzgerald

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

Formulaire PCT/IB/304 (juillet 1992)

001923238

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

20 AVR. 1999

Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

PCT

Destinataire:

BREESE-MAJEROWICZ
3, avenue de l'Opéra
F-75001 Paris
FRANCE

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU
RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE
INTERNATIONAL

(règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition
(jour/mois/année)

16.04.99

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
F17B11bisPCT

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale No.
PCT/FB98/00081

Date du dépôt international (jour/mois/année)
16/01/1998

Date de priorité (jour/mois/année)
20/01/1997

Déposant

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE... et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.

2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.

3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

4. RAPPEL

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international

Office européen des brevets
D-80298 Munich
Tél. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

Peralt Lappas R.

Tél. (+49-89) 2399-8052

W. Ringel



PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire F17B11bisPCT	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR98/00081	Date du dépôt international (jour/mois/année) 16/01/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 20/01/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/13		
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE... et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 6 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 5 feuilles.

- Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale

31/07/1998

Date d'achèvement du présent rapport

12.08.98

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:



Office européen des brevets
D-80298 Munich
Tél. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

Pilat, D

N° de téléphone (+49-89) 2399 8668



**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/00081

I. Bas du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après *(les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.)* :

Description, pages:

1-21 version initiale

Revendications, N°:

1-18 reçue(s) avec télécopie du 01/04/1999

Dessins, feuilles:

1/5-5/5 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/00081

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	1-11,14,15,17
Activité inventive	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	12,13,16,18
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications	1-18
	Non : Revendications	

2. Citations et explications

voir feuille séparée

Section I: *Base du rapport d'examen préliminaire internationale*

Il est fait référence aux documents suivants:

D1 WO-A-9006997

D2 D. Noel et al. Journal of Immunological Methods, vol.193, N°2, 21 juin 1996,
p.177-87

1) Modifications (Articles 34 (2)(b) et 19(2) PCT)

Les modifications apportées aux revendications 1-18 semblent être acceptables et n'étendent pas l'objet de la présente demande au-delà du contenu de la demande telle qu'elle a été déposée.

Section II: *Priorité*

2) Priorité (Article 8 PCT)

Ce rapport d'examen préliminaire internationale est fondé sur l'assumption que toutes les revendications jouissent d'un droit de priorité datant du dépôt du document de priorité. S'il s'avérait qu'il n'en était pas ainsi, le document P cité dans le rapport de recherche internationale pourrait devenir pertinent.

Section V: *Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration*

3) Nouveauté (Article 33 (2) PCT)

- 3.1 D1 décrit des cellules endothéliales de mammifère, de préférence humaines, transformées avec un vecteur contenant un promoteur et un gène codant pour une protéine hétérologue. Ce vecteur peut inclure une séquence signal, nécessaire à la sécrétion de cette protéine (voir p2-3 lignes 21-32 et lignes 1-8 respectivement). Cette protéine est par exemple un anticorps (voir p.8 , lignes 10-21).

D1 décrit aussi une utilisation préférentielle de vecteur rétroviraux ou adénoviraux et la transformation à l'aide de liposomes, de dextrane sulfate, par lipofection ou à l'aide de particules de tungstène. Enfin, D1 mentionne que la cellule endothéliale de mammifère utilisée est dérivée de l'hôte dans lequel la transformation doit avoir lieu (voir p.5 dernier paragraphe).

D2 décrit la transfection de cellule COS-7 avec des plasmides exprimant les chaînes Tg10H et -κ. Ce document montre aussi que l'anticorps monoclonal Tg10 cloné possède une affinité similaire à l'anticorps parental (voir résumé). La transfection des vecteurs codant pour la chaîne lourde et légère dans la cellule COS-7 ou la transformation avec un vecteur codant pour les deux chaînes d'anticorps produisent des anticorps recombinants sécrétés fonctionnels (voir p.183, paragraphe 3.2). D2 mentionne également une liaison entre la chaîne lourde rTg10H, produite par la cellule COS-7 transfectée avec PM124, et la thyroglobuline humaine (voir p.184, col.1, dernier paragraphe).

Ces deux enseignements anticipent, par conséquent, le matériel biologique des revendications 1-11, 14, 15, 17.

4) Activité inventive (Article 33 (3) PCT)

- 4.1 Les revendications dépendantes 12, 13 ne contiennent aucune caractéristique qui, en combinaison avec celles de l'une quelconque des revendications à laquelle elles se réfèrent, définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive, et ce pour les raisons suivantes:

Un matériel biologique et une utilisation tels que décrit dans les revendications 1-11, sont connus dans l'art antérieur (voir point 3.1 ci-dessus). Le matériel biologique est en outre adapté à une utilisation thérapeutiques (voir D1, p.9, lignes 8-12). Le choix de diriger l'anticorps contre un antigène tumoral ou encore contre un antigène spécifique des cellules infectées par un virus sont des choix dépourvus d'activité inventive. Ils correspondent à un choix que la personne du métier aurait effectué selon les circonstances. Les revendications 12 et 13 sont donc évidentes.

- 4.2 Le matériel biologique décrit aux points 3.1 et 4.1 est connu ou évident. De plus, l'utilisation de ce matériel à des fins thérapeutiques est également décrite. Il

semble donc que l'utilisation de ce matériel biologique pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou des infections virales correspond à un choix évident. L'objet de la revendication 16 n'est donc pas inventif.

- 4.3 L'utilisation d'une séquence d'acide nucléique selon la revendication 18 est connue (voir point 3.1 ci-dessus). La sélection d'un traitement limité aux cancers ou aux infections virales est un choix parmi d'autres que la personne du métier aurait envisagé suivant les circonstances. La revendication 18 est évidente.

REVENDICATIONS.

5 1) Matériel biologique pour la préparation
de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un
mammifère par transfert de gène, comprenant, soit au
moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène
thérapeutique et se présentant sous une forme permettant
le transfert *in vivo* dudit gène dans des cellules de
mammifère, soit au moins une cellule de mammifère ne
10 produisant pas naturellement des anticorps,
génétiquement modifiée *in vitro* par au moins une
séquence d'acide nucléique précédente, et se présentant
sous une forme permettant son incorporation dans
l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement sa
15 culture préalable, caractérisé en ce que ladite séquence
d'acides nucléiques contient un gène d'anticorps et des
éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
20 de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps.

25 2) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
30 d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps, ladite séquence se

présentant sous la forme d'une séquence d'ADN ou d'ARN
nuc.

5 3) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
10 d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps, ladite séquence étant
15 complexée ou conjuguée à une molécule ou substance
porteuse.

20 4) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
25 de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps, ladite séquence étant un
vecteur permettant le transfert efficace *in vivo* du gène
d'anticorps dans des cellules.

30 5) Matériel biologique selon la
revendication 4, caractérisé en ce que le vecteur est un
vecteur viral biologique.

35 6) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il est constitué

de cellules ne produisent pas naturellement des anticorps, sous une forme permettant leur incorporation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement leur culture préalable, lesdites cellules étant génétiquement modifiées par au moins une séquence d'acides nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

7) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène, selon la revendication 6, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps proviennent soit du mammifère à traiter, soit d'un autre mammifère que celui à traiter ayant subi un traitement les rendant compatibles.

8) Matériel biologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps sont choisies parmi celles possédant :

- la capacité de pouvoir sécréter des protéines dans la circulation sanguine d'un mammifère;
- une longue durée de vie dans l'organisme d'un mammifère, d'au moins plusieurs mois à plusieurs années jusqu'à la vie entière du patient.

9) Matériel biologique selon la revendication 8, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps sont choisies parmi celles acceptant facilement d'être prélevées,

modifiées génétiquement ex vivo et implantées chez un mammifère.

5 10) Matériel biologique selon l'une
quelconque des revendications 8 et 9, caractérisé en ce
que les cellules ne produisant pas naturellement des
anticorps sont choisies parmi les kératinocytes, les
hépatocytes, les fibroblastes de peau, les myoblastes,
les cellules endothéliales et les cellules souches
10 hématopoïétiques.

11) Matériel biologique selon l'une
quelconque des revendications précédentes, caractérisé
en ce que le gène d'anticorps est un gène codant pour un
15 anticorps natif, un fragment ou un dérivé de cet
anticorps tel qu'un anticorps chimérique.

12) Matériel biologique pour la préparation
de compositions pharmaceutiques destinées à traiter ou à
20 prévenir un cancer chez un sujet, selon la revendication
11, caractérisé en ce que ledit anticorps, fragment ou
dérivé d'anticorps est dirigé contre un antigène
spécifique de cellules tumorales.

25 13) Matériel biologique pour la préparation
de compositions pharmaceutiques destinées à traiter ou à
prévenir une infection ou une expansion virale chez un
sujet, selon la revendication 11, caractérisé en ce que
ledit anticorps fragment ou dérivé d'anticorps est
30 dirigé contre un antigène spécifique du virus
responsable de la dite infection ou contre un antigène
spécifique des cellules infectées par ledit virus.

35 14) Composition pharmaceutique comprenant un
matériel biologique selon l'une quelconque des

revendications 1 à 13 avantageusement en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

5 15) Cellule humaine ou non ne produisant pas naturellement des anticorps, caractérisée en ce qu'elle est génétiquement modifiée par au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps thérapeutique et des éléments assurant l'expression in vivo dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la
10 circulation sanguine d'un mammifère ayant reçu lesdites cellules d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

15 16) Utilisation d'un matériel biologique selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 ou de cellules selon la revendication 15, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou d'infections virales.

20 17) Utilisation d'une séquence d'acide nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression in vivo dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet
25 anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un
30 mammifère par transfert de gène.

35 18) Utilisation selon la revendication 17, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou d'infections virales.

Translation

5000
PATENT COOPERATION TREATY

D. G. 3

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

09 341 894

Applicant's or agent's file reference F17B11bisPCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR98/00081	International filing date (<i>day/month/year</i>) 16 January 1998 (16.01.1998)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 20 January 1997 (20.01.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/13		
Applicant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>5</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 31 July 1998 (31.07.1998)	Date of completion of this report 16 April 1999 (16.04.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR98/00081

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-21, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-18, filed with the letter of 01 April 1999 (01.04.1999),
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/5-5/5, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/00081

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

Reference is made to the following documents:

D1: WO-A-9006997

D2: D.Noel et al. Journal of Immunological Methods,
vol.193, No.2, 21 June 1996, pp.177-87.

1) Amendments (PCT Article 34(2)(b) and PCT Article 19(2))

The amendments made to Claims 1 to 18 appear to be acceptable and do not extend the subject matter of the present application beyond the content of the disclosure as filed.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/00081

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: I I

2) Priority (PCT Article 8)

This international preliminary examination report is based on the assumption that all the claims enjoy the right to priority from the date on which the priority document was filed. If this did not prove to be the case, the P document cited in the international search report could become relevant.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/00081

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1-11, 14, 15, 17	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	12, 13, 16, 18	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-18	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

3) Novelty (PCT Article 33(2))

3.1 D1 describes mammal endothelial cells, preferably of human origin, which are transformed with a vector containing a promoter and a gene coding for a heterologous protein. This vector can include a signal sequence, necessary for the secretion of this protein (see pages 2 and 3, lines 21 to 32, and lines 1 to 8 respectively). This protein is, for example, an antibody (see p.8, lines 10 to 21).

D1 also describes a preferred use of retroviral or adenoviral vectors and the transformation, by means of liposomes, of dextrane sulphate by lipofection or using tungsten particles. Finally, D1 refers to the fact that the mammal endothelial cell used is derived from the host in which the transformation is to take place (see p.5, last paragraph).

D2 describes the transfection of the COS-7 cell with plasmids expressing the chains Tg10H and -k. This document also discloses the fact that the monoclonal antibody cloned Tg10 possesses a similar affinity to the parental antibody (see abstract). The

transfection of the vectors coding for the heavy and light chain in the COS-7 cell or the transformation with a vector coding for both chains of antibodies produces functional secreted recombinant antibodies (see p.183, paragraph 3.2). D2 also refers to a bond between the heavy chain rTg10H, produced by the cell COS-7 transfected with PM124, and human thyroglobulin (see p.184, col.1, last paragraph). Consequently, these two teachings anticipate the biological material of Claims 1 to 11, 14, 15 and 17.

4) Inventive step (PCT Article 33(3))

- 4.1 Dependent Claims 12 and 13 do not contain any features which, in combination with those of any of the features to which they refer, define a subject satisfying the requirements of the PCT as regards inventive step for the following reasons:

A biological material and a use as described in Claims 1 to 11 are disclosed by the prior art (see 3.1 above). In addition, the biological material is suitable for therapeutic use (see D1, p.9, lines 8 to 12). The choice of directing the antibody against a tumoral antigen or also against a specific antigen of the cells infected by a virus are choices devoid of inventive step. They correspond to a choice which a person skilled in the art would have made according to the circumstances. Claims 12 and 13 are therefore obvious.

- 4.2 The biological material described in 3.1 and 4.1 is either known or is obvious. Furthermore, the use of this material for therapeutic purposes is also

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/00081

described. The use of this biological material for the preparation of a pharmaceutical composition to treat cancers or viral infections therefore appears to correspond to an obvious choice. The subject matter of Claim 16 is not therefore inventive.

- 4.3 The use of a nucleic acid sequence according to Claim 18 is known (see 3.1 above). The selection of a limited treatment for cancers or viral infections is one of several choices which a person skilled in the art would have envisaged according to the circumstances. Claim 18 is obvious.

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVET

Expéditeur : l'ADMINISTRATION CHARGÉE DE
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT

Destinataire

BREESE MAJEROWICZ
3, avenue de l'Opéra
75001 PARIS
FRANCE

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU
RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
OU DE LA DECLARATION

(règle 44.1 du PCT)

28 Rec'd PCT/PTO 20 JUL 1999

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
F17B11bisPCT

Date d'expédition
(jour/mois/année) 20/05/1998

POUR SUITE A DONNER
voir les paragraphes 1 et 4 ci-après

Demande internationale n°
PCT/FR 98/ 00081

Date du dépôt international
(jour/mois/année) 16/01/1998

Déposant

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE et al.

1. ☒ Il est notifié au déposant que le rapport de recherche internationale a été établi et lui est transmis ci-joint.

Dépôt de modifications et d'une déclaration selon l'article 19 :

Le déposant peut, s'il le souhaite, modifier les revendications de la demande internationale (voir la règle 46):

Quand? Le délai dans lequel les modifications doivent être déposées est de deux mois à compter de la date de transmission du rapport de recherche internationale ; pour plus de précisions, voir cependant les notes figurant sur la feuille d'accompagnement.

Où? Directement auprès du Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse
n° de télécopieur: (41-22)740.14.35

Pour des instructions plus détaillées, voir les notes sur la feuille d'accompagnement.

2. ☐ Il est notifié au déposant qu'il ne sera pas établi de rapport de recherche internationale et la déclaration à cet effet, prévue à l'article 17.2(a), est transmise ci-joint.

3. ☐ **En ce qui concerne la réserve** pouvant être formulée, conformément à la règle 40.2, à l'égard du paiement d'une ou de plusieurs taxes additionnelles, il est notifié au déposant que

☐ la réserve ainsi que la décision y relative ont été transmises au Bureau international en même temps que la requête du déposant tendant à ce que le texte de la réserve et celui de la décision en question soient notifiés aux offices désignés.

☐ la réserve n'a encore fait l'objet d'aucune décision; dès qu'une décision aura été prise, le déposant en sera avisé.

4. **Mesure(s) consécutive(s) :** Il est rappelé au déposant ce qui suit:

Peu après l'expiration d'un délai de **18 mois** à compter de la date de priorité, la demande internationale sera publiée par le Bureau international. Si le déposant souhaite éviter ou différer la publication, il doit faire parvenir au Bureau international une déclaration de retrait de la demande internationale, ou de la revendication de priorité, conformément aux règles 90bis.1 et 90bis.3, respectivement, avant l'achèvement de la préparation technique de la publication internationale.

Dans un délai de **19 mois** à compter de la date de priorité, le déposant doit présenter la demande d'examen préliminaire international s'il souhaite que l'ouverture de la phase nationale soit reportée à 30 mois à compter de la date de priorité (ou même au-delà dans certains offices).

Dans un délai de **20 mois** à compter de la date de priorité, le déposant doit accomplir les démarches prescrites pour l'ouverture de la phase nationale auprès de tous les offices désignés qui n'ont pas été élus dans la demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou qui ne pouvaient pas être élus parce qu'ils ne sont pas liés par le chapitre II.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Deborah Grandis

NOTES RELATIVES AU FORMULAIRE PCT/ISA/220

Les présentes notes sont destinées à donner les instructions essentielles concernant le dépôt de modifications selon l'article 19. Les notes sont fondées sur les exigences du Traité de coopération en matière de brevets (PCT), du règlement d'exécution et des instructions administratives du PCT. En cas de divergence entre les présentes notes et ces exigences, ce sont ces dernières qui priment. Pour de plus amples renseignements, on peut aussi consulter le Guide du déposant du PCT, qui est une publication de l'OMPI.

Dans les présentes notes, les termes "article", "règle" et "instruction" renvoient aux dispositions du traité, de son règlement d'exécution et des instructions administratives du PCT, respectivement.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LES MODIFICATIONS SELON L'ARTICLE 19

Après réception du rapport de recherche internationale, le déposant a la possibilité de modifier une fois les revendications de la demande internationale. On notera cependant que, comme toutes les parties de la demande internationale (revendications, description et dessins) peuvent être modifiées au cours de la procédure d'examen préliminaire international, il n'est généralement pas nécessaire de déposer de modifications des revendications selon l'article 19 sauf, par exemple, au cas où le déposant souhaite que ces dernières soient publiées aux fins d'une protection provisoire ou à une autre raison de modifier les revendications avant la publication internationale. En outre, il convient de rappeler que l'obtention d'une protection provisoire n'est possible que dans certains États.

Quelles parties de la demande internationale peuvent être modifiées?

Selon l'article 19, les revendications exclusivement.

Durant la phase internationale, les revendications peuvent aussi être modifiées (ou modifiées à nouveau) selon l'article 34 auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international. La description et les dessins ne peuvent être modifiées que selon l'article 34 auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international.

Lors de l'ouverture de la phase nationale, toutes les parties de la demande internationale peuvent être modifiées selon l'article 28 ou, le cas échéant, selon l'article 41.

Quand?

Dans un délai de deux mois à compter de la date de transmission du rapport de recherche internationale ou de 16 mois à compter de la date de priorité, selon l'échéance la plus tardive. Il convient cependant de noter que les modifications seront réputées avoir été reçues en temps voulu si elles parviennent au Bureau international après l'expiration du délai applicable mais avant l'achèvement de la préparation technique de la publication internationale (règle 46.1).

Où ne pas déposer les modifications?

Les modifications ne peuvent être déposées qu'auprès du Bureau international; elles ne peuvent être déposées ni auprès de l'office récepteur ni auprès de l'administration chargée de la recherche internationale (règle 46.2).

Lorsqu'une demande d'examen préliminaire international a été/est déposée, voir plus loin.

Comment?

Soit en supprimant entièrement une ou plusieurs revendications, soit en ajoutant une ou plusieurs revendications nouvelles ou encore en modifiant le texte d'une ou de plusieurs des revendications telles que déposées.

Une feuille de remplacement doit être remise pour chaque feuille des revendications qui, en raison d'une ou de plusieurs modifications, diffère de la feuille initialement déposée.

Toutes les revendications figurant sur une feuille de remplacement doivent être numérotées en chiffres arabes. Si une revendication est supprimée, il n'est pas obligatoire de renuméroter les autres revendications. Chaque fois que des revendications sont renumérotées, elles doivent l'être de façon continue (instruction 205.b)).

Les modifications doivent être effectuées dans la langue dans laquelle la demande internationale est publiée.

Quels documents doivent/puvent accompagner les modifications?

Lettre (instruction 205.b)):

Les modifications doivent être accompagnées d'une lettre.

La lettre ne sera pas publiée avec la demande internationale et les revendications modifiées. Elle ne doit pas être confondue avec la "déclaration selon l'article 19.1)" (voir plus loin sous "Déclaration selon l'article 19.1)").

La lettre doit être rédigée en anglais ou en français, au choix du déposant. Cependant, si la langue de la demande internationale est l'anglais, la lettre doit être rédigée en anglais; si la langue de la demande internationale est le français, la lettre doit être rédigée en français.

NOTES RELATIVES AU FORMULAIRE PCT/ISA/220 (suite)

La lettre doit indiquer les différences existant entre les revendications telles que déposées et les revendications telles que modifiées. Elle doit indiquer en particulier, pour chaque revendication figurant dans la demande internationale (étant entendu que des indications identiques concernant plusieurs revendications peuvent être groupées), si

- i) la revendication n'est pas modifiée;
- ii) la revendication est supprimée;
- iii) la revendication est nouvelle;
- iv) la revendication remplace une ou plusieurs revendications telles que déposées;
- v) la revendication est le résultat de la division d'une revendication telle que déposée.

Les exemples suivants illustrent la manière dont les modifications doivent être expliquées dans la lettre d'accompagnement:

1. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 48 et qu'à la suite d'une modification de certaines revendications il s'élève à 51]:
"Revendications 1 à 15 remplacées par les revendications modifiées portant les mêmes numéros; revendications 30, 33 et 36 pas modifiées; nouvelles revendications 49 à 51 ajoutées."
2. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 15 et qu'à la suite d'une modification de toutes les revendications il s'élève à 11]:
"Revendications 1 à 15 remplacées par les revendications modifiées 1 à 11."
3. [Lorsque le nombre des revendications déposées initialement s'élevait à 14 et que les modifications consistent à supprimer certaines revendications et à en ajouter de nouvelles]:
"Revendications 1 à 6 et 14 pas modifiées; revendications 7 à 13 supprimées; nouvelles revendications 15, 16 et 17 ajoutées." ou
"Revendications 7 à 13 supprimées; nouvelles revendications 15, 16 et 17 ajoutées; toutes les autres revendications pas modifiées."
4. [Lorsque plusieurs sortes de modifications sont faites]:
"Revendications 1-10 pas modifiées; revendications 11 à 13, 18 et 19 supprimées; revendications 14, 15 et 16 remplacées par la revendication modifiée 14; revendication 17 divisée en revendications modifiées 15, 16 et 17; nouvelles revendications 20 et 21 ajoutées."

"Déclaration selon l'article 19.1)" (Règle 46.4)

Les modifications peuvent être accompagnées d'une déclaration expliquant les modifications et précisant l'incidence que ces dernières peuvent avoir sur la description et sur les dessins (qui ne peuvent pas être modifiés selon l'article 19.1)).

La déclaration sera publiée avec la demande internationale et les revendications modifiées.

Elle doit être rédigée dans la langue dans laquelle la demande internationale est publiée.

Elle doit être succincte (ne pas dépasser 500 mots si elle est établie ou traduite en anglais).

Elle ne doit pas être confondue avec la lettre expliquant les différences existant entre les revendications telles que déposées et les revendications telles que modifiées, et ne la remplace pas. Elle doit figurer sur une feuille distincte et doit être munie d'un titre permettant de l'identifier comme telle, constitué de préférence des mots "Déclaration selon l'article 19.1)"

Elle ne doit contenir aucun commentaire dénigrant relatif au rapport de recherche internationale ou à la pertinence des citations que ce dernier contient. Elle ne peut se référer à des citations se rapportant à une revendication donnée et contenues dans le rapport de recherche internationale qu'en relation avec une modification de cette revendication.

Conséquence du fait qu'une demande d'examen préliminaire international ait déjà été présentée

Si, au moment du dépôt de modifications effectuées en vertu de l'article 19, une demande d'examen préliminaire international a déjà été présentée, le déposant doit de préférence, lors du dépôt des modifications auprès du Bureau international, déposer également une copie de ces modifications auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 62.2a), première phrase).

Conséquence au regard de la traduction de la demande internationale lors de l'ouverture de la phase nationale

L'attention du déposant est appelée sur le fait qu'il peut avoir à remettre aux offices désignés ou élus, lors de l'ouverture de la phase nationale, une traduction des revendications telles que modifiées en vertu de l'article 19 au lieu de la traduction des revendications telles que déposées ou en plus de celle-ci.

Pour plus de précisions sur les exigences de chaque office désigné ou élu, voir le volume II du Guide du déposant du PCT.

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire F17B11bisPCT	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° PCT/FR 98/ 00081	Date du dépôt international (jour/mois/année) 16/01/1998	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 20/01/1997
Déposant CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

2. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

3. ☐ La demande internationale contient la divulgation d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence

☐ déposé avec la demande internationale

☐ fourni par le déposant séparément de la demande internationale

☐ sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.

☐ transcrit par l'administration

4. En ce qui concerne le titre, ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la suivante:

Figure n° ☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FN/88/00081

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C12N15/13 A61K31/70 A61K48/00 C12N5/10

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 90 06997 A (U.S. GOVERNMENT) 28 juin 1990 voir exemple 1 voir revendications ---	1-18
A	E. FENJVES ET AL.: "Systemic delivery of secreted protein by grafts of epidermal keratinocytes: Prospects for keratinocyte gene therapy." HUMAN GENE THERAPY, vol. 5, no. 10, octobre 1994, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 1241-1248, XP002044923 cité dans la demande voir le document en entier --- -/--	1-18

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

7 mai 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

20/05/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Nooij, F

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités. avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	K. KATO ET AL.: "Local production of the p40 subunit of interleukin 12 suppresses T-helper 1-mediated immune responses and prevents allogeneic myoblast rejection." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE USA, vol. 93, no. 17, 20 août 1996, WASHINGTON, DC, TATS-UNIS, pages 9085-9089, XP002044924 voir abrégé ---	1-18
A	D. NOEL ET AL.: "Analysis of the individual contributions of immunoglobulin heavy and light chains to the binding of antigen using cell transfection and plasmon resonance analysis." JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, vol. 193, no. 2, 21 juin 1996, AMSTERDAM, PAYS BAS, pages 177-187, XP002044925 voir abrégé voir figure 1 ---	1-18
A	R. BEERLI ET AL.: "Intracellular expression of single chain antibodies reverts ErbB-2 transformation." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 39, 30 septembre 1994, BALTIMORE, MD, TATS-UNIS, pages 23931-23936, XP002044926 voir abrégé ---	1-18
A	S. AGER ET AL.: "Retroviral display of antibody fragments; Interdomain spacing strongly influences vector infectivity." HUMAN GENE THERAPY, vol. 7, no. 17, 10 novembre 1996, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 2157-2164, XP002044927 voir abrégé voir figure 4 ---	1-18
A	FR 2 706 486 A (RHONE-POULENC RORER S.A.) 23 décembre 1994 voir exemples voir revendications ---	1-18
P,X	D. NOEL ET AL.: "In vitro and in vivo secretion of cloned antibodies by genetically modified myogenic cells." HUMAN GENE THERAPY, vol. 8, no. 10, 1 juillet 1997, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 1219-1229, XP002044928 voir le document en entier -----	1-18

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 98/00081

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9006997 A	28-06-1990	CA 2005199 A	13-06-1990
		EP 0456640 A	21-11-1991
		JP 4507041 T	10-12-1992
FR 2706486 A	23-12-1994	AU 7076394 A	03-01-1995
		BR 9407512 A	07-01-1997
		CA 2165458 A	22-12-1994
		CN 1126491 A	10-07-1996
		CZ 9503295 A	13-03-1996
		EP 0703980 A	03-04-1996
		FI 956057 A	15-12-1995
		WO 9429446 A	22-12-1994
		HU 74266 A	28-11-1996
		JP 8511162 T	26-11-1996
		NO 955011 A	11-12-1995
		PL 312213 A	01-04-1996
		SK 156895 A	08-05-1996
		ZA 9404303 A	14-02-1995

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int .tional Application No
PCT/FR 98/00081

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/13 A61K31/70 A61K48/00 C12N5/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 90 06997 A (U.S. GOVERNMENT) 28 June 1990 see example 1 see claims	1-18
A	<p>-----</p> <p>E. FENJVES ET AL.: "Systemic delivery of secreted protein by grafts of epidermal keratinocytes: Prospects for keratinocyte gene therapy." HUMAN GENE THERAPY, vol. 5, no. 10, October 1994, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 1241-1248, XP002044923 cited in the application see the whole document</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 May 1998

Date of mailing of the international search report

20/05/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Nooij, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/00081

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>K. KATO ET AL.: "Local production of the p40 subunit of interleukin 12 suppresses T-helper 1-mediated immune responses and prevents allogeneic myoblast rejection." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE USA, vol. 93, no. 17, 20 August 1996, WASHINGTON, DC, TATS-UNIS, pages 9085-9089, XP002044924 see abstract</p>	1-18
A	<p>D. NOEL ET AL.: "Analysis of the individual contributions of immunoglobulin heavy and light chains to the binding of antigen using cell transfection and plasmon resonance analysis." JOURNAL OF IMMUNOLOGICAL METHODS, vol. 193, no. 2, 21 June 1996, AMSTERDAM, PAYS BAS, pages 177-187, XP002044925 see abstract see figure 1</p>	1-18
A	<p>R. BEERLI ET AL.: "Intracellular expression of single chain antibodies reverts ErbB-2 transformation." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 269, no. 39, 30 September 1994, BALTIMORE, MD, TATS-UNIS, pages 23931-23936, XP002044926 see abstract</p>	1-18
A	<p>S. AGER ET AL.: "Retroviral display of antibody fragments; Interdomain spacing strongly influences vector infectivity." HUMAN GENE THERAPY, vol. 7, no. 17, 10 November 1996, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 2157-2164, XP002044927 see abstract see figure 4</p>	1-18
A	<p>FR 2 706 486 A (RHONE-POULENC RORER S.A.) 23 December 1994 see examples see claims</p>	1-18
P,X	<p>D. NOEL ET AL.: "In vitro and in vivo secretion of cloned antibodies by genetically modified myogenic cells." HUMAN GENE THERAPY, vol. 8, no. 10, 1 July 1997, NEW YORK, NY, TATS-UNIS, pages 1219-1229, XP002044928 see the whole document</p>	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. l. Application No

PCT/FR 98/00081

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9006997 A	28-06-1990	CA 2005199 A	13-06-1990
		EP 0456640 A	21-11-1991
		JP 4507041 T	10-12-1992
FR 2706486 A	23-12-1994	AU 7076394 A	03-01-1995
		BR 9407512 A	07-01-1997
		CA 2165458 A	22-12-1994
		CN 1126491 A	10-07-1996
		CZ 9503295 A	13-03-1996
		EP 0703980 A	03-04-1996
		FI 956057 A	15-12-1995
		WO 9429446 A	22-12-1994
		HU 74266 A	28-11-1996
		JP 8511162 T	26-11-1996
		NO 955011 A	11-12-1995
		PL 312213 A	01-04-1996
		SK 156895 A	08-05-1996
		ZA 9404303 A	14-02-1995



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/13, A61K 31/70, 48/00, C12N 5/10	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 98/31808 (43) Date de publication internationale: 23 juillet 1998 (23.07.98)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00081 (22) Date de dépôt international: 16 janvier 1998 (16.01.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/00540 20 janvier 1997 (20.01.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75015 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): PIECHACZYK, Marc [FR/FR]; 123, rue des Erables, F-34980 Saint Gély du Fesc (FR). NOEL, Danièle [FR/FR]; 8, rue Yves Montand, F-34830 Clapiers (FR). (74) Mandataire: BREESE-MAJEROWICZ; 3, avenue de l'Opéra, F-75001 Paris (FR).		(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
(54) Title: BIOLOGICAL MATERIAL FOR TREATING A MAMMAL BY ANTIBODY GENE TRANSFER AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING SAME		
(54) Titre: MATERIEL BIOLOGIQUE POUR LE TRAITEMENT D'UN MAMMIFERE PAR TRANSFERT DE GENE D'ANTICORPS ET COMPOSITION PHARMACEUTIQUE LE CONTENANT		
(57) Abstract <p>The invention concerns a biological material for preparing a pharmaceutical compositions for treating a mammal by gene transfer, comprising, either at least a nucleic acid sequence containing a therapeutic gene and in a form enabling <i>in vivo</i> transfer of said gene into the cells of the mammal, or at least one cell of the mammal not naturally producing antibodies, genetically modified <i>in vitro</i> by at least a previous nucleic acid sequence, and in a form enabling its incorporation into the mammal's system as well as optionally its previous culture. The invention is characterised in that said nucleic acid sequence contains an antibody gene and elements for expressing <i>in vivo</i> said antibody gene and the secretion in the blood circulation of a mammal a therapeutically effective amount of this antibody or a fragment of it, by cells of said mammal genetically modified by said nucleic acid sequence and not naturally producing antibodies. The invention also concerns the pharmaceutical compositions containing this biological material.</p> (57) Abrégé <p>L'invention concerne un matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène, comprenant, soit au moins une séquence d'acides nucléiques contenant un gène thérapeutique et se présentant sous une forme permettant le transfert <i>in vivo</i> dudit gène dans des cellules de mammifère, soit au moins une cellule de mammifère ne produisant pas naturellement des anticorps, génétiquement modifiée <i>in vitro</i> par au moins une séquence d'acides nucléiques précédente, et se présentant sous une forme permettant son incorporation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement sa culture préalable, caractérisé en ce que ladite séquence d'acides nucléiques contient un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression <i>in vivo</i> dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps. L'invention concerne aussi les compositions pharmaceutiques comprenant ce matériel biologique.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce		de Macédoine	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	ML	Mali	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MN	Mongolie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MR	Mauritanie	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MW	Malawi	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	MX	Mexique	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Pays-Bas	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NO	Norvège	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	NZ	Nouvelle-Zélande		
CM	Cameroun			PL	Pologne		
CN	Chine	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CZ	République tchèque	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
DE	Allemagne	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DK	Danemark	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
EE	Estonie	LR	Libéria	SG	Singapour		

MATÉRIEL BIOLOGIQUE POUR LE TRAITEMENT D'UN
MAMMIFÈRE PAR TRANSFERT DE GÈNE D'ANTICORPS ET
COMPOSITION PHARMACEUTIQUE LE CONTENANT.

5 La présente invention concerne le domaine de
la thérapie génique consistant à transférer dans les
cellules d'un sujet au moins un gène codant pour une
protéine thérapeutique. Plus particulièrement,
10 l'invention concerne le transfert, dans des cellules ne
produisant pas naturellement des anticorps, de séquences
d'acide nucléique codant pour tout ou partie ou dérivé
d'anticorps thérapeutiques impliquant une composante
protéique participant à l'effet thérapeutique, de sorte
15 que les cellules génétiquement modifiées par ces
séquences d'acide nucléique et implantées chez un sujet
produisent et sécrètent dans la circulation sanguine
dudit sujet une quantité thérapeutiquement efficace de
cet anticorps.

 La thérapie génique consiste à corriger la
20 déficience d'un gène en introduisant, dans les cellules
où la déficience dudit gène est cause d'une pathologie,
une séquence d'ADN portant l'information génétique
permettant de remédier la déficiente. Les perspectives
d'application de la thérapie génique dans le domaine des
25 maladies génétiques sont nombreuses et l'on peut citer
par exemple les corrections des thalasseemies, de la
drépanocytose, des déficits du métabolisme hépatique, de
la mucoviscidose, des myopathies, etc ... (W. F.
Anderson, 256, 808, 1992 ; R. C. Mulligan, Science,
30 260, 926, 1993 ; D. Miller, Nature, 357, 455, 1992 ; R.
Morgan et W. F. Anderson, Ann. Rev. Biochem., 62, 191,
1993 ; B. Dodet, Biofutur, Mai 1992).

 Mais la thérapie génique permet aussi de
lutter contre des maladies qui ne relèvent pas
35 exclusivement d'une déficience génétique, tels que des

cancers ou des infections virales, en introduisant dans les cellules de l'organe ou du tissu atteint un gène codant pour une protéine ou un ARN thérapeutique. De telles substances thérapeutiques sont par exemple des cytokines, des anticorps intracellulaire, des variants de protéines virales, des ARNs antisens, des ribozymes, etc

Les techniques permettant l'introduction de l'information génétique dans des cellules sont décrites dans la littérature. Deux approches principales peuvent cependant être envisagées.

La première consistant à introduire la séquence d'ADN portant l'information génétique directement *in vivo* dans les cellules des organes ou tissus cibles de la thérapie ou dans des cellules d'organes ou de tissus chargés de produire la substance thérapeutique, soit au voisinage du lieu de production, soit de façon systémique.

La seconde, relevant de la thérapie cellulaire et dite *ex vivo*, consiste à prélever des cellules d'un sujet, à modifier ces cellules *in vitro* en y introduisant la séquence d'ADN portant l'information génétique que l'on souhaite transférer, puis à réintroduire les cellules ainsi modifiées dans l'organisme du sujet. Cette stratégie thérapeutique est par exemple décrite dans le brevet américain No. 5 399 346.

Les séquences d'ADN portant l'information génétique que l'on souhaite introduire dans les cellules sont associés fonctionnellement à des séquences d'ADN permettant leur expression *in vivo* et peuvent se présenter sous plusieurs formes :

- Dans le cas d'un transfert de gène directement *in vivo* selon la première approche envisagée ci-dessus, elles peuvent être utilisées sous forme :

. libre, c'est à dire transférées sous forme d'ADN nu, comme un plasmide ou un fragment de restriction, notamment par injection *in vivo* dans les cellules, comme décrit dans la demande de brevet internationale publiée sous le numéro WO 90 11 092;

. complexée ou associée à d'autres molécules favorisant leur entrée dans les cellules eucaryotes comme la lipofectin, le transfectace, le transfectam, la polyethylénimine, etc ...;

. incorporée dans un vecteur viral, lequel sera introduit directement *in vivo* dans les cellules de l'organe ou du tissu cible par infection.

- Dans le cas d'un transfert de gène selon la seconde approche envisagée précédemment, dite *ex vivo*, la séquence d'ADN est intégrée *in vitro* dans des cellules qui sont ensuite introduites dans l'organisme du sujet; il peut s'agir alors par exemple de cellules souches hématopoïétique, de lymphocytes T, d'hépatocytes etc... Dans ce cas, les cellules génétiquement modifiées *in vitro* par la séquence d'ADN, selon les techniques décrites ci-dessus pour une introduction directement *in vivo*, peuvent avoir été prélevées du sujet traité ou provenir d'un autre sujet humain ou animal comme le porc (E. Cozzi et D. J. G. White, Nature Genetics, 1, 964-966, 1995).

Parmi, les substances capables d'interférer avec une pathologie et que l'on cherche à produire dans l'organisme du patient pour une thérapie génique, on peut citer certains antigènes ou anticorps.

L'expression de séquences d'ADN codant pour des protéines antigéniques vise à permettre la production, par les cellules génétiquement modifiées par cet ADN, d'antigène susceptibles d'induire une immunisation de l'individu. Une telle stratégie de vaccination a par exemple été mise en oeuvre dans le cas

de divers pathogènes dont le virus de la grippe (Tang, D., De Vit, M., et Johnston, Nature, 356, 152-154, 1992).

La production *in vitro* d'anticorps, de fragments d'anticorps ou de dérivés d'anticorps tels que des anticorps chimériques, par génie génétique dans des cellules eucaryotes a également déjà été décrite, par exemple dans les brevets européens publiés sous les numéros 120 694 et 125 023. L'injection à des patients d'anticorps thérapeutiques vise à cibler des antigènes impliqués dans une pathologie afin de neutraliser soit directement, soit par le biais d'une cascade d'événements métaboliques ou immunitaires, l'un des agents causals de la maladie. On peut citer comme exemples de telles stratégies thérapeutiques, le traitement ou la prévention de lymphomes B (Yefenof, E., Picker, L. I., Scheuermann, R. N., Vitetta, E. S., Street, N. E., Tucker, T., Uhr, J. W., Current Opinion in Immunology, 5, 740-744, 1993).

La demande de brevet internationale publiée sous le numéro WO 94 29 446 décrit l'expression intracellulaire de séquences d'ADN codant pour des anticorps. Cette approche permet d'envisager une thérapie génique directement *in vivo* de pathologie impliquant des composants cellulaires non accessibles par les méthodes de vaccination traditionnelles ou fondée sur la production *in vivo* d'antigènes recombinants. Les séquences d'ADN exprimées par les cellules génétiquement modifiées selon la méthode décrite dans la demande de brevet internationale WO 94 29 446 sont donc essentiellement caractérisées par le fait qu'elles comprennent un gène d'anticorps modifié de façon à ce que l'anticorps ne soit pas sécrété.

La présente invention vise au contraire à réaliser l'expression *in vivo* de gènes d'anticorps par

des cellules qui sécréteront lesdits anticorps dans la circulation sanguine du mammifère porteur des cellules génétiquement modifiées par le gène d'anticorps.

5 Cette invention est fondée sur la mise en évidence que divers types cellulaires, autres que ceux produisant naturellement des anticorps sont capables, après modification génétique, de produire de manière stable *in vivo* des anticorps.

10 En effet, les plasmocytes, qui sont les cellules spécialisées pour la production d'anticorps, constituent de mauvais candidats pour la production à long terme d'anticorps thérapeutiques par transfert de gènes; les plasmocytes ont une durée de vie réduite, de l'ordre de quelques jours, et le fait qu'ils produisent
15 déjà un autre anticorps est de nature à conduire à des associations ou des recombinaisons entre les chaînes de l'anticorps naturellement produit et l'anticorps exprimé par le gène transféré, ce qui est hautement préjudiciable à l'effet thérapeutique recherché. Il
20 était donc important de montrer que des types cellulaires non spécialisés pour la production naturelle d'anticorps étaient susceptibles d'accepter un transfert de gène, d'exprimer *in vivo* un anticorps thérapeutique et de sécréter des niveaux soutenus avantageusement
25 régulés d'anticorps dans la circulation sanguine d'un mammifère.

En conséquence, la présente invention concerne un matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un
30 mammifère par transfert de gène, comprenant :

- soit au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène thérapeutique et se présentant sous une forme permettant le transfert *in vivo* dudit gène dans des cellules de mammifère,

- soit au moins une cellule de mammifère ne produisant pas naturellement des anticorps, génétiquement modifiée *in vitro* par au moins une séquence d'acide nucléique précédente, et se présentant sous une forme permettant son implantation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement sa culture préalable,

ledit matériel biologique étant caractérisé par le fait que ladite séquence d'acide nucléique contient un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps.

Par séquence d'acides nucléiques, on entend aussi bien des séquences d'ADN ou d'ARN ou des séquences contenant des nucléotides modifiés.

La séquence d'acides nucléiques entrant dans la composition du matériel biologique de l'invention comprend :

- au moins un gène d'anticorps thérapeutique, c'est à dire un gène codant pour un anticorps natif non modifié donc naturel, ou un fragment d'anticorps, tels que les fragments Fab ou F(ab)'₂ ou les fragments ScFv, ou encore un dérivé d'anticorps comme un anticorps chimérique ou un anticorps ou fragment d'anticorps fusionné à une substance effectrice par exemple une toxine ou une hormone;

- au moins un élément assurant l'expression du gène précédent; il s'agit de séquences promotrices de la transcription placées en amont du gène d'anticorps et

contrôlant son expression dans les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps.

Outre le gène d'anticorps et son promoteur, la séquence d'acides nucléiques peut comprendre une
5 séquence de terminaison de la transcription, située en aval du gène d'anticorps et permettant la sécrétion du produit du gène d'anticorps dans la circulation sanguine du mammifère dont des cellules ont été génétiquement modifiées par la séquence d'acides nucléiques.

10 Le promoteur utilisé peut être tout promoteur permettant une expression efficace du gène qu'il contrôle dans le type cellulaire génétiquement modifié par la séquence d'acides nucléiques. Il peut ainsi être un promoteur viral, un promoteur ubiquitaire
15 ou spécifique de tissu ou encore un promoteur synthétique.

Selon une première forme de réalisation, le matériel biologique de l'invention comprend une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps et des
20 éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
25 ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, ladite séquence se présentant sous la forme d'une séquence d'ADN ou d'ARN nue. On entend plus particulièrement par séquence d'ADN nu un plasmide, mais il peut aussi s'agir de tout autre
30 forme d'ADN tel qu'un fragment de restriction. Une composition pharmaceutique à base de ce matériel biologique peut être administrée à un individu par injection ou électroporation localisée; elle contient alors outre, la ou les séquences d'acide nucléique du
35 matériel biologique, un véhicule ou adjuvant

pharmaceutiquement acceptable et compatible avec des acides nucléiques.

Selon une deuxième forme de réalisation, le matériel biologique de l'invention comprend une séquence
5 d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
10 cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, ladite séquence étant complexée ou conjuguée à une molécule ou substance porteuse favorisant sa pénétration dans les cellules
15 cibles, comme des liposomes ou des vésicules lipidiques.

Selon une troisième forme de réalisation, le matériel biologique de l'invention comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
20 et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
25 cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, ladite séquence se présentant sous la forme d'un vecteur de transfert. Le vecteur dans lequel est incorporé le gène d'anticorps
30 peut être un vecteur viral biologique, comme un rétrovirus, un adénovirus, un parvovirus ou tout autre vecteur permettant le transfert efficace *in vivo* du gène d'anticorps dans les cellules d'un mammifère. Une composition pharmaceutique à base de ce matériel
35 biologique peut être administrée à un individu soit localement soit par voie systémique selon les méthodes

classiques de transfert de gène, par transfection d'ADN ou d'ARN ou infection par un virus.

Un quatrième mode de réalisation de l'invention relève d'une stratégie de transfert de gène par thérapie cellulaire mettant en oeuvre des cellules génétiquement modifiées. Dans ce mode de réalisation, le matériel biologique de l'invention est constitué de cellules ne produisent pas naturellement des anticorps, et se présentant sous une forme permettant leur incorporation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement leur culture préalable, lesdites cellules étant génétiquement modifiées par au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

Le mode de réalisation précédent peut être mis en oeuvre selon deux variantes :

- Soit, les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps entrant dans la composition du matériel biologique de l'invention proviennent du mammifère à traiter. Dans cette variante, les cellules sont préparées par les techniques consacrées de la biologie cellulaire et moléculaire, comme par exemple, à partir de biopsies prélevées du patient à traiter, puis ces cellules sont modifiées génétiquement par la séquence d'acide nucléique portant le gène d'anticorps, soit par transfection soit par infection par un vecteur conforme à ceux décrits précédemment dans le cas d'un transfert de gène directement *in vivo*. Les compositions pharmaceutiques fabriquées à partir de ce matériel biologique sont administrées en retour au patient dont les cellules ont été prélevées.

- Soit, les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps entrant dans la composition du matériel biologique de l'invention proviennent d'un autre mammifère humain ou animal que celui à traiter. Ces cellules ont été préparées comme dans la variante précédente. Dans le cas de cellules d'origine humaine, celles-ci proviennent de donneurs compatibles; dans le cas de cellules d'origine non-humaine, on utilise des cellules d'animaux génétiquement modifiées, comme le porc, rendues compatibles pour une greffe d'organe.

Les cellules précédentes se présentent sous une forme permettant leur implantation par tout moyen connu dans l'organisme du mammifère receveur. Elles peuvent en outre se présenter sous une forme ayant permis de les cultiver préalablement à la greffe. Il peut s'agir de tout support ou milieu de culture compatible avec leur administration et leur incorporation chez le receveur, comme par exemple une matrice du type de celle décrite dans la demande de brevet européen publiée sous le numéro 378 576 concernant des fibroblastes.

Dans le quatrième mode de réalisation, mais aussi pour la préparation des acides nucléiques entrant dans la composition des matériels biologiques des autres modes de réalisation de l'invention, on choisit des cellules ne produisant pas naturellement des anticorps mais possédant :

- la capacité de pouvoir sécréter des protéines dans la circulation sanguine d'un mammifère;
- une longue durée de vie dans l'organisme du mammifère, avantageusement d'au moins plusieurs mois à plusieurs années jusqu'à la vie entière du patient.

Plus particulièrement pour le quatrième mode de réalisation de l'invention, ces cellules sont

choisies pour leur capacité à accepter facilement d'être prélevées, modifiées génétiquement *ex vivo* et implantées chez un mammifère.

5 Parmi les type cellulaires présentant les caractéristiques précédentes, l'invention envisage plus spécifiquement les kératinocytes, les hépatocytes, les fibroblastes de peau, les myoblastes, les cellules endothéliales et les cellules souches hématopoïétiques.

10 Il a été démontré de manière surprenante (Fenjves, E. S., Smith, J., Zaradic, S., et Teichman, L. B., Human Gene Therapy, 5, 1241-1248, 1994) que les kératinocytes pouvaient produire relativement efficacement des protéines vers l'organisme et non pas seulement vers l'extérieur. En outre, leur culture est
15 facile et en routine depuis plusieurs années dans les services hospitaliers pour les greffes de peau.

La manipulation des hépatocytes est plus difficile que celle des kératinocytes. Cependant, il a été montré (Grossman, M., Raper, S. E., Kozarsky, K.,
20 Stein, E. A., Engelhart, J. F., Müller, D., Lupien, P. J., Wilson, J. M., Nature Genetics, 6, 335-341, 1994 ; Ferry, N., Duplessis, O., Houssin, D., Danos, O., Heard J-M., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 88, 8377-8381, 1991)
25 que les hépatocytes pouvaient être infectés par des rétrovirus recombinants à la fois *ex vivo* et *in vivo*.

La culture et la transduction rétrovirale des fibroblastes de peau sont faciles (Moullier, P., Maréchal, V., Danos, O., Heard, J-M., Transplantation, 56, 427-432, 1993). La manipulation des organoïdes est
30 aisée (Moullier et al., Nature Genetics, 4, june 1993, 154-159). Les fibroblastes présentent l'avantage d'être facilement prélevable chez un sujet par une simple opération chirurgicale. En outre, des protocoles de thérapie génique sont en préparation pour la correction
35 de déficits lysosomiaux chez les enfants.

Les myoblastes qui sont des cellules musculaires non différenciées, peuvent aussi être purifiés, et seront vraisemblablement utilisés sans modification génétique dans le cadre du traitement de certaines maladies dégénératives (Yao, S-N., Smith, K. J., et Kurachi, K., Gene Therapy, 1, 99-107, 1994).

La modification génétique de cellules endothéliales a déjà été réalisée pour produire des protéines thérapeutiques, par exemple dans la demande de brevet internationale PCT publiée sous le numéro WO 90 06997. Les cellules endothéliales, qui constituent la paroi des vaisseaux sanguins, sont donc particulièrement adaptées à la mise en oeuvre du matériel biologique de l'invention, dont le but est de faire sécréter, par les cellules génétiquement modifiées, les anticorps dans la circulation sanguine d'un mammifère.

D'autres types cellulaires peuvent être envisagés, telles que les cellules souches hématopoïétiques, dès lors qu'ils remplissent les caractéristiques définies plus haut.

Le matériel biologique de l'invention trouve son application dans la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter ou à prévenir les rechutes de cancers, et les infections ou expansions virales plus particulièrement le SIDA.

Le cancer touche environ une personne sur quatre dans les populations occidentales et les traitements disponibles aujourd'hui ne sont réellement satisfaisants que pour un patient sur deux.

Des maladies virales graves touchent de manière de plus en plus importante les populations humaines, on pense bien entendu plus particulièrement aux virus HIV, pour lequel on ne dispose à l'heure

actuelle d'aucun traitement efficace pour prévenir ou traiter l'infection.

Le matériel biologique de l'invention est remarquable en ce qu'il permet d'envisager une nouvelle
5 approche thérapeutique de ces maladies très graves.

En effet, dans le cas des cancers, il permet à l'organisme de disposer sur le long terme d'anticorps spécifiques des cellules tumorales soit cytocides, soit induisant la dormance cellulaire. Ce but est atteint en
10 utilisant des séquences d'acide nucléique portant un gène codant pour des anticorps dirigés contre un antigène spécifique de cellules tumorales.

Dans le cas des infections virales, le matériel biologique de l'invention permet à l'organisme
15 de maintenir sur le long terme un niveau basal d'anticorps soit neutralisants pour les virus, soit cytocides pour les cellules infectées. Ce but est atteint en utilisant des séquences d'ADN codant pour des anticorps dirigés contre un antigène spécifique du virus
20 responsable de la dite infection ou contre un antigène spécifique des cellules infectées par ledit virus.

La présente invention concerne donc aussi les compositions pharmaceutiques comprenant un matériel biologique tel que défini précédemment. Ces compositions
25 peuvent contenir outre le matériel biologique de l'invention, des véhicules ou adjuvants classiquement utilisés. Les doses de matériel biologique entrant dans ces compositions pharmaceutiques sont adaptées au mode d'administration utilisée, à la pathologie visée, de la
30 séquence d'acide nucléique mise en oeuvre et de sa forme de présentation, pour permettre la production et la sécrétion d'une quantité thérapeutiquement efficace de l'anticorps dans la circulation sanguine du sujet traité.

L'invention concerne aussi des cellules humaines ou non-humaines ne produisant pas naturellement des anticorps, mais génétiquement modifiées par au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps thérapeutique et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère ayant reçu lesdites cellules d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

Ces cellules constituent un matériel biologique particulièrement adapté pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à une thérapie cellulaire *ex vivo* d'un individu.

Les cellules humaines précédentes, dès lors qu'elles ne proviennent pas du patient chez lequel elles sont implantées, ou les cellules animales, sont bien entendu, préalablement à leur implantation, traitées par tous moyens physiques ou génétiques, connus de l'homme du métier, pour être protégées du système immunitaire du patient les recevant.

L'invention a encore pour objet l'utilisation d'un matériel biologique ou de cellules de précédents, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou d'infections virales. L'invention concerne aussi l'utilisation d'une séquence d'acides nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas

naturellement des anticorps, pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène. Plus particulièrement, cette utilisation vise la préparation de compositions pharmaceutiques destinées au traitement des cancers ou d'infections virales.

L'invention concerne enfin un procédé de fabrication d'une cellule génétiquement modifiée par au moins une séquence d'ADN codant pour un anticorps thérapeutique ou un fragment de cet anticorps, caractérisée en ce que l'on transfère par tout moyen approprié des séquences d'ADN codant pour un anticorps thérapeutique ou un fragment de cet anticorps, dans des cellules ne produisant pas naturellement des anticorps, puis en ce que l'on sélectionne parmi ces cellules celles génétiquement modifiées par ladite séquence d'ADN.

Outre les caractéristiques qui précèdent, l'invention comporte d'autres caractéristiques qui apparaîtront au cours de la description qui suit et qui se réfèrent à des exemples expérimentaux de réalisation et de mise en oeuvre de la présente invention, étant entendu que ces exemples ne sauraient constituer une quelconque limitation à la portée des revendications.

Les travaux rapportés ci-dessous ont permis de démontrer que :

- *in vitro* des cellules prélevables chez le patient, modifiables génétiquement *ex vivo* et réimplantables, qui ne produisent pas naturellement des anticorps, sont capables de sécréter des anticorps recombinants conservant les propriétés de l'anticorps d'origine,

- au moins un type cellulaire précédent est capable de sécréter *in vivo* des anticorps recombinants conservant les propriétés de l'anticorps d'origine.

- le matériel biologique de l'invention n'induit dans l'organisme modifié aucune réponse immunitaire neutralisant l'anticorps recombinant.

I - Définition de l'anticorps recombinant.

L'anticorps recombinant modèle utilisé pour les expériences de transfert de gène d'anticorps rapportées ci-après est un anticorps monoclonal de souris anti-thyroglobuline humaine (Tg10) (Piechaczyk et al., Hybridoma, vol. 4, 4, (1985), 361-367). Son clonage moléculaire et la caractérisation fonctionnelle des ADN complémentaires de sa chaîne lourde et de sa chaîne légère ont été effectués comme indiqué ci-après.

La thyroglobuline est une glycoprotéine iodée de haut poids moléculaire impliquée dans la synthèse, le stockage et la sécrétion des hormones thyroïdiques T3 et T4 (Marriq, C., C. Arnaud, M. Rolland, and S. Lissitzky. 1980. Eur. J. Biochem. 111:3347). Un anticorps monoclonal de souris, désigné ci-après Tg10, dirigé contre une région antigénique (région II) fréquemment reconnu par des autoanticorps naturels chez les patients atteints de maladie de Grave, de la thyroïdite de Hashimoto et des carcinomes de la thyroïde, a été établi par des membres du laboratoire CNRS UMR 9921 de la Faculté de pharmacie de Montpellier, Avenue Charles Flahaut, 34060, Montpellier Cedex 01, France (Piechaczyk et al., Hybridoma, vol. 4, 4, (1985), 361-367). Les ADN complémentaires des chaînes légères (Kappa) et lourde (IgG1) de l'anticorps Tg10 ont été clonés dans le vecteur pSPORT1 (Gibco/BRL) par les

techniques consacrées du génir génétique (Sambrook, J., E. F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning : A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA). Les séquences nucléotidiques des parties variables des chaînes lourdes et légères qui spécifient chacune des chaînes d'anticorps ont été déterminées et sont représentées respectivement aux figures 1 et 2 en annexe. Le clonage et le séquençage des ADNc de l'anticorps Tg10 ont été effectués au laboratoire sus-mentionné.

Pour leur caractérisation fonctionnelle, les ADNc de la chaîne légère et de la chaîne lourde de l'anticorps Tg10 ont été clonés dans le vecteur rétroviral pLXPXSN (Morgan, R. A., L. Couture, O. Elroy-Stein, J. Ragheb, B. Moss, and W. F. Anderson. 1992. Nucl. Acids Res 20:1293-1299) soit de part et d'autre de la séquence IRES du poliovirus endogène à ce vecteur pour former les vecteurs PM130, soit individuellement en amont de la séquence IRES pour former les vecteurs PM117 et PM124, comme représenté à la figure 3 en annexe). Les cellules simiennes COS-7 (ATCC CRL 1651) ont ensuite été transfectées par la technique au phosphate de calcium soit par PM130 seul, soit par la combinaison PM117+PM124. La présence dans les surnageants de culture d'anticorps réactifs contre la thyroglobuline humaine a été testée par la technique ELISA (Piechaczyk et al., Hybridoma, vol. 4, 4, (1985), 361-367). En outre, les constantes cinétiques d'association et de dissociation de l'anticorps recombinant Tg10 produit par les cellules COS-7 avec la thyroglobuline ont été déterminées à partir des surnageants de culture par résonance plasmonique de surface (Fagerstam, L. G., and R. Karlsson. 1993. Biosensor techniques. In Immunochemistry. V. Oss and M. vanRegenmortel, eds. M

Dekker Inc. p.949-970) suivant la technique Biacore développée par la société Pharmaci Biosensor.

Les valeurs de ces constantes sont rapportées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1

Anticorps	Constante cinétique d'association k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	Constante cinétique de dissociation k_{off} (s^{-1})	Constante d'affinité K_a
Anticorps Tg10 naturel	$4,6 \pm 0,1 \times 10^5$	$5,3 \pm 0,2 \times 10^{-5}$	$8,6 \pm 0,4 \times 10^9$
Anticorps Tg10 recombinant (PM117+PM124)	$1,4 \pm 0,3 \times 10^5$	$4,3 \pm 1,0 \times 10^{-5}$	$3,2 \pm 1,4 \times 10^9$
Anticorps Tg10 recombinant (PM130)	$2,1 \pm 1,5 \times 10^5$	$6,0 \pm 0,4 \times 10^{-5}$	$3,5 \pm 2,7 \times 10^9$
Chaîne lourde de l'anticorps Tg10 recombinant (PM117+PM124)	$1,0 \pm 0,3 \times 10^5$	$3,0 \pm 0,2 \times 10^{-4}$	$3,3 \pm 1,2 \times 10^8$

De façon surprenante, le tableau 1 montre que la chaîne lourde synthétisée seule à partir de PM124 est sécrétée par les cellules COS-7 et reconnaît la thyroglobuline humaine avec une affinité diminuée seulement de 10 fois par rapport à l'anticorps complet.

II - Lignées productrices de rétrovirus.

La plupart des cellules primaires sont extrêmement sensibles aux méthodes de transfection classiques. En outre, la durée de vie, et donc l'expression, de l'ADN transfecté est en général très courte dans la plupart des cellules transfectées.

Pour permettre une infection efficace de types cellulaires variés et une expression sur le long terme de l'anticorps Tg10 dans les cellules

génétiqnement modifiées, une lignée cellulaire productrice de rétrovirus recombinants véhiculant et exprimant les ADNc de l'anticorps Tg10 a été établie.

5 Les cellules d'empaquetage rétroviral amphotrope PA 317 (Miller, D. and Buttimore, 1986, Molec. Cell Biol. 6, 2895-2902) ont été transfectées par la technique du précipité au phosphate de calcium par le vecteur rétroviral PM130. Plusieurs clones producteurs stables ont été établis. La lignée PA130.10 a été
10 utilisée pour les expériences d'infection ultérieures. Son titre en virus, dosé sur la lignée indicatrice NIH 3T3 (Miller, D. and Buttimore, 1986, Molec. Cell Biol. 6, 2895-2902) a été de 10^4 cfu/ml.

15 III - Expériences in vitro.

Les rétrovirus produits par la lignée PA130.10 ont été utilisés pour infecter différentes lignées cellulaires établies représentatives de
20 différents types cellulaires disponibles auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC) :

- lignée NIH3T3 de fibroblastes murins;
- lignée A431 de kératinocytes humains;
- lignée HepG2 d'hépatocytes humains;
- 25 - lignée C2C12 de myoblastes.

Différents clones cellulaires ont été dérivés pour chaque type de transduction rétrovirale et l'anticorps Tg10 produit dans le surnageant de culture a
30 été dosé par ELISA. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2

Lignées	Anticorps Tg10
Lignée NIH3T3	88 +/- 65 ng / 10^5 cellules / 24hrs
Lignée A431	35 +/- 6 ng / 10^5 cellules / 24hrs
Lignée HepG2	3,5 +/- 1,5 ng / 10^5 cellules / 24hrs
Lignée C2C12	2 +/- 0,6 ng / 10^5 cellules / 24hrs

En outre, dans le cas des myoblastes C2C12 différenciés in vitro en myotubes la production est conservée.

Les propriétés thermodynamiques et cinétiques des anticorps produits par ces différents types cellulaires déterminées par résonance plasmonique de surface selon la technologie BIAcore (Pharmacia Biosensor) se sont révélées être identiques à celles de l'anticorps Tg10 de départ.

Les vecteurs rétroviraux ont dans un second temps été utilisés pour infecter des fibroblastes primaires de peau de souris (infection rétrovirale et des hépatocytes humains (transfection). Les productions en anticorps ont été respectivement de :

- 10 à 20 ng / 10^5 cellules / 3 jours, et de
- 1 à 10 ng / 10^5 cellules / 4 jours.

De même, les caractéristiques des anticorps produits ont été les mêmes que celles de l'anticorps de départ.

IV - Expérience in vivo.

Des cellules C2C12 modifiées génétiquement et qui ont conservé la capacité de se différencier en myotubes ont été implantées par injection dans les jambiers antérieurs de 4 souris syngéniques C3H à raison de 10^7 cellules par jambier.

Chez 3 des 4 souris, la production d'anticorps recombinants ayant conservé les propriétés thermodynamique et la propriété de reconnaissance de l'antigène de l'anticorps de départ a été suivie pendant
5 deux mois. La quantité d'anticorps produite s'est régulièrement élevée du niveau de base à une production d'environ 100 ng/ml de sérum.

10 V - Absence de réponse immunitaire neutralisant l'anticorps recombinant.

Un des buts essentiels de l'invention est de faire produire de manière systémique un anticorps recombinant, avantageusement thérapeutique par des
15 cellules génétiquement modifiées de mammifère.

Un risque possible de cette approche est l'induction d'une réponse immunitaire de la part de l'organisme modifié pouvant entraîner la neutralisation de l'anticorps recombinant.

20 Cette objection a été écartée par les résultats expérimentaux présentés ci-dessous.

2 x 10⁷ cellules myogéniques primaires exprimant de façon stable l'anticorps monoclonal Tg10 après transduction rétrovirale sont implantées au niveau
25 du *tibialis anterior* de souris C3H. Le sérum des souris est prélevé à des intervalles d'une semaine pendant plusieurs mois. La quantité d'anticorps Tg10 secrétés est dosée par la méthode ELISA. En parallèle, la
30 quantité d'anticorps anti-idiotypique est déterminée par ELISA.

Dans une série de 5 souris, la sécrétion de l'anticorps Tg10 s'est située entre 100 et 300 ng/ml de sérum pendant 4 mois. Aucune réponse anti-idiotypique n'a
35 pu être détectée dans ces conditions.

REVENDEICATIONS.

1) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène, comprenant, soit au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène thérapeutique et se présentant sous une forme permettant le transfert *in vivo* dudit gène dans des cellules de mammifère, soit au moins une cellule de mammifère ne produisant pas naturellement des anticorps, génétiquement modifiée *in vitro* par au moins une séquence d'acide nucléique précédente, et se présentant sous une forme permettant son incorporation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement sa culture préalable, caractérisé en ce que ladite séquence d'acides nucléiques contient un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps.

2) Matériel biologique selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, ladite séquence se

présentant sous la forme d'une séquence d'ADN ou d'ARN nue.

5 3) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
10 d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps, ladite séquence étant
15 complexée ou conjuguée à une molécule ou substance
porteuse.

 4) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend une
séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps
20 et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène
d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine
d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des
cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par
25 ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas
naturellement des anticorps, ladite séquence étant un
vecteur permettant le transfert efficace *in vivo* du gène
d'anticorps dans des cellules.

30 5) Matériel biologique selon la
revendication 4, caractérisé en ce que le vecteur est un
vecteur viral biologique.

35 6) Matériel biologique selon la
revendication 1, caractérisé en ce qu'il est constitué

de cellules ne produisent pas naturellement des anticorps, sous une forme permettant leur incorporation dans l'organisme d'un mammifère ainsi qu'éventuellement leur culture préalable, lesdites cellules étant
5 génétiquement modifiées par au moins une séquence d'acides nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace
10 de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

7) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène, selon la revendication
15 6, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps proviennent du mammifère à traiter.

8) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un mammifère par transfert de gène, selon la revendication
20 6, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps proviennent d'un autre mammifère que celui à traiter et ont subi un traitement les rendant compatibles.
25

9) Matériel biologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement
30 des anticorps sont choisies parmi celles possédant :

- la capacité de pouvoir sécréter des protéines dans la circulation sanguine d'un mammifère;
- une longue durée de vie dans l'organisme d'un mammifère.

10) Matériel biologique selon la revendication 9, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps sont choisies parmi celles acceptant facilement d'être prélevées, modifiées génétiquement ex vivo et implantées chez un mammifère.

11) Matériel biologique selon l'une quelconque des revendications 9 et 10, caractérisé en ce que les cellules ne produisant pas naturellement des anticorps sont choisies parmi les kératinocytes, les hépatocytes, les fibroblastes de peau, les myoblastes, les cellules endothéliales et les cellules souches hématopoïétiques.

12) Matériel biologique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que le gène d'anticorps est un gène codant pour un anticorps natif, un fragment ou un dérivé de cet anticorps tel qu'un anticorps chimérique.

13) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter ou à prévenir un cancer chez un sujet, selon la revendication 12, caractérisé en ce que ledit anticorps, fragment ou dérivé d'anticorps est dirigé contre un antigène spécifique de cellules tumorales.

14) Matériel biologique pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter ou à prévenir une infection ou une expansion virale chez un sujet, selon la revendication 12, caractérisé en ce que ledit anticorps fragment ou dérivé d'anticorps est dirigé contre un antigène spécifique du virus

responsable de la dite infection ou contre un antigène spécifique des cellules infectées par ledit virus.

5 15) Composition pharmaceutique comprenant un matériel biologique selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 avantageusement en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

10 16) Cellule humaine ou non ne produisant pas naturellement des anticorps, caractérisée en ce qu'elle est génétiquement modifiée par au moins une séquence d'acide nucléique contenant un gène d'anticorps thérapeutique et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la
15 circulation sanguine d'un mammifère ayant reçu lesdites cellules d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci.

20 17) Utilisation d'un matériel biologique selon l'une quelconque des revendications 1 à 14 ou de cellules selon la revendication 16, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou d'infections virales.

25 18) Utilisation d'une séquence d'acide nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet
30 anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps, pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter un
35 mammifère par transfert de gène.

19) Utilisation selon la revendication 18, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des cancers ou d'infections virales.

5

20) Procédé de fabrication d'une cellule selon la revendication 16, caractérisé en ce que l'on transfère par tout moyen approprié au moins une séquence d'acides nucléiques contenant un gène d'anticorps et des éléments assurant l'expression *in vivo* dudit gène d'anticorps et la sécrétion dans la circulation sanguine d'un mammifère d'une quantité thérapeutiquement efficace de cet anticorps ou d'un fragment de celui-ci, par des cellules dudit mammifère génétiquement modifiées par ladite séquence d'acides nucléiques et ne produisant pas naturellement des anticorps dans des cellules ne produisant pas naturellement des anticorps, puis en ce que l'on sélectionne parmi ces cellules celles génétiquement modifiées par ladite séquence d'acide nucléique.

20

Fig. 1a

ATG GGT TGG CTG TGG AAC TTG CTA TTC CTG ATG GCA GCT GCC CAA AGT GCC CAA GGA CAG
 M G W L W N L L F L M A A A Q S A Q G Q
 -20 -10 -1 1
 ATC CAC TTG GTA CAG TCT GGA CCT GAG CTG AAG AAG CCT GGA GAG ACA GTC AAG ATC TCC
 I H L V Q S G P E L K K P G E T V K I S
 10 20
 TGC AAG GCT TCT GGG TAT ACC TTC ACA TCG TAT GGC TTG ACC TGG GTG ATA CAG TCT CCA
 C K A S G Y T F T S Y G L T W V I Q S P
 30 40
 GGA AAG GAT TTA AAA TGG ATG GGC TGG ATA AAC ACC TTC TCT GGA GTG CCA ACA TAT GCT
 G K D L K W M G W I N T F S G V P T Y A
 50 52 52A 60

Fig.1b

GAT GAC TTC AAG GGA CGC TTT GCC TTC TCT TTG GAC ACC TCT ACC AGC ACT GCC TAT TTG
 D D F K G R F A F S L D T S T S T A Y L
 70 80

CAG ATC GAC AAC CTC AAA AAT GAG GAC ACG GCT ACA TAT TTC TGT TCA AGA AGG GGG GGT
 Q I D N L K N E D T A T Y F C S R R G G
 82 82A 82B 82C 90 94

TTT ATT ACT ACG GCT CTT GAC ACC TGG GGC CAA GGC ACC TCT CTC ACA GTC TCC TCA GCC
 F I T T A L D T W G Q G T S L T V S S A
 100 110 113

Fig.2a

ATG AAG TTG CCT GGT AGG CTG TTG GTG CTG ATG TTC TGG ATT CCT GCT TCC AAT AGT AAT
 M K L P G R L L V L M F W I P A S N S N
 -19 -10 -1 1
 GTT GTG ATG ACC CAA ACT CCA CTC TCC CTG TCT GTC AGT CTT GGA GAT CAA GCC TCC ATC
 V V M T Q T P L S L S V S L G D Q A S I
 10 20
 TCT TGC AGA TCT AGT CAG AGC ATT GTA CAT AGT AAT GGA AAC ACC TAT TTA GAA TGG TAC
 S C R S S Q S I V H S N G N T Y L E W Y
 27 27A 27B 27C 27D 27E
 CTG CAG AAA CCA GGC CAG TCT CCA AAG CTC CTG ATC TAT AAA GTT TCC AAC CGA TTG TCT
 L Q K P G Q S P K L L I Y K V S N R L S
 40 50

Fig.2b

```

GGG GTC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGA TCA GGG ACA GAC TTC ACA CTC AAA ATC AGC
G V P D R F S G S G T D F T L K I S
60 70

AGA GTG GAG GCT GAG GAT CTG GGA CTT TAT TAC TGT TTT CAA GGT TCA CAT ATT CCA TTC
R V E A E D L G L Y Y C F Q G S H I P F
80 90

ACG TTC GGT TCG GGG ACA AAG TTC GAA ATA AAA CGG GCT GAT GCT GCA CCA ACT GTA TCC
T F G S G T K L E I K R A D A A P T V S
100 110

```


Fig.3

